

Venous graft remodeling : novel mechanisms and pharmaco-modulation strategies

Citation for published version (APA):

de Graaf, R. (2008). *Venous graft remodeling : novel mechanisms and pharmaco-modulation strategies*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. D&L Graphics. <https://doi.org/10.26481/dis.20081113rg>

Document status and date:

Published: 01/01/2008

DOI:

[10.26481/dis.20081113rg](https://doi.org/10.26481/dis.20081113rg)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

In this thesis some novel mechanisms that might lead to intimal hyperplasia and subsequent venous graft failure are highlighted and potential intervention possibilities are suggested. **Chapter 1** presents a comprehensive overview of the pathogenesis of intimal hyperplasia with special emphasis on the role of SMC proliferation herein. Also, attention is given to currently employed intervention methods, in particular by pharmaceutical interference. In **chapter 2** the inflammatory nature of venous intimal hyperplasia is underscored by the observation that macrophages and T lymphocytes co-localize with in intimal hyperplastic lesions of failed bypass grafts as correlates to earlier reports in the literature. Of more importance however is the finding that both macrophages and T lymphocytes are detectable at higher levels in veins found to fail in the year following bypass surgery, than in veins surviving this one year follow-up period. Obviously, this implicates that immunohistochemical evaluation of veins at the time of implantation as bypass grafts could be a prognostic tool and might help to individualize medical treatment. **Chapter 3** puts forward a novel mechanism by which HSP60, a protein recently discovered to play a role in vascular disease might induce venous intimal hyperplasia. Originally considered responsible for intracellular protective processes, and lately implicated in the auto-immune response hypothesis of cardiovascular disease, e.g. atherosclerosis, we reported the direct mitogenic aspect of autologous HSP60. Furthermore, we emphasized the earlier suggested affiliation between HSP60 and TLRs since we presented TLR2 and TLR4 as receptors by which HSP60 mediates its mitogenic effects. First, we hereby suggest a novel autocrine mechanism in the development of intimal hyperplasia and second we propose a possible target for intervention. In **chapter 4** we questioned whether hyperoxia is a significant factor in the pathogenesis of venous bypass intimal hyperplasia. Since arterial oxygen levels might be stressful to venous cells, we proposed that relative hyperoxia might be an additional factor in the inflammatory cascade leading to intimal hyperplasia. We found hyperoxia to induce the release of pro-inflammatory and mitogenic cytokines by venous SMCs. Since free oxygen radicals seem to be intermediaries between hyperoxia and the subsequent intracellular inflammatory process, we tried to scavenge these culprit factors by antioxidant treatment. N-acetyl cysteine, a strong scavenger of free radicals proved to counteract the detrimental effect of hyperoxia in venous SMCs. Furthermore, we showed that N-acetyl cysteine is a potent inhibitor of neointima formation in a venous graft bypass model in the rat, which advocates future application of this pharmacological agent in clinical trials. In **chapter 5** we addressed the final common pathway of intimal hyperplasia. We examined the expression of cell cycle proteins in normal veins

and intimal hyperplastic lesions. The high proliferation rate of venous SMCs within these lesions correlated well to the expression profile of cell cycle proteins. Since blocking cell cycle progression has proven efficient to restrain cell proliferation, we suggested pharmacological manipulation of cell cycle protein expression to interfere with venous neointima formation. **Chapter 6** elaborates on the prevention of neointima formation by investigating the anti-proliferative qualities of FK778, a better tolerated derivate of the known immune-suppressive drug Leflunomide. First, we showed that FK778 inhibits venous SMC proliferation *in vitro*. We substantiated our *in vitro* results by showing that oral FK778 inhibited neointima formation in a rat venous bypass model. In conclusion, the data presented in this thesis underscore the inflammatory nature of neointima formation. Also, the role of two as yet underestimated mediators in the development of neointima formation, autologous HSP60 and supra-physiological oxygen, has been analyzed in more detail and related to the pro-inflammatory profile within the venous graft wall. Furthermore, our data suggest that pharmaceutical treatment might be applicable to abolish the negative effects of these mediators or to intervene with their down-stream pathways.

Aderverkalking in de slagaders van de benen is een veel voorkomende cardiovasculaire aandoening die nog te vaak tot ernstige invaliditeit leidt. Gelukkig kan de vaatchirurg in veel gevallen een ader gebruiken om het bloed om te leiden tot in het onderbeen. Helaas gaat deze “veneuze graft” in circa de helft van de gevallen na verloop van tijd dichtzitten door “intima hyperplasie.” Veneuze intima hyperplasie (IH) is het verdikken van de vaatwand door uitbundig vermenigvuldigen van gladde spiercellen waaruit de normale vaatwand grotendeels is opgebouwd. Dit kan dermate ernstige vormen aannemen dat een veneuze graft faalt. In het huidige proefschrift worden tot dusver onbekende mechanismen beschreven welke zouden kunnen bijdragen tot het ontstaan van intima hyperplasie in veneuze grafts. Verder worden therapeutische mogelijkheden aangedragen ter voorkoming van dit proces. In **hoofdstuk 1** wordt een uitvoerig overzicht verstrekt aangaande het ontstaan van intima hyperplasie, waarbij vooral wordt ingegaan op de rol van de gladde spiercel. Tevens worden de vooral medicamenteuze interventie mogelijkheden belicht welke momenteel vaak worden toegepast. In **hoofdstuk 2** wordt het inflammatoire karakter van intima hyperplasie benadrukt. Hierin wordt beschreven dat macrofagen en T-lymfocyten aantoonbaar zijn in veneuze intima hyperplasie laesies, maar ook in venen voordat deze geïmplantéerd worden als veneuze bypass. Deze ontstekingscellen zijn echter in grotere aantallen detecteerbaar in venen welke falen binnen een jaar na implantatie in vergelijking met venen welke langer dan 1 jaar open blijven. Deze bevinding impliceert dat het kwantificeren van ontstekingscellen in native venen het lot van de veneuze bypass voorspelt en daarmee gerichte therapie mogelijk maakt. **Hoofdstuk 3** beschrijft hoe humaan heat shock proteïne (HSP) 60 een rol speelt in het ontstaan van veneuze IH. Het is reeds gesuggereerd dat HSP60 via een auto-immuun reactie bijdraagt tot het ontstaan van atherosclerose. In dit hoofdstuk wordt beschreven dat humaan HSP60 een direct mitogeen effect heeft op veneuze gladde spiercellen door interactie met toll like receptor (TLR) 2 en 4. Hiermee wordt een nieuw autocrien mechanisme in het ontstaan van IH en een mogelijk interventie doel geponeerd. In **hoofdstuk 4** wordt het gevolg van hoge zuurstof concentratie op veneuze cellen onderzocht. Omdat een vene geïmplantéerd in de arteriële circulatie naast hemodynamische stress ook aan een verhoogde zuurstofspanning wordt blootgesteld, veronderstelden wij een bijdrage van relatieve hyperoxie aan de pathogenese van veneuze IH. Wij concluderen dat hyperoxie veneuze gladde spiercellen stimuleert tot het uitscheiden van inflammatoire en pro-mitogene cytokinen. Dit proces kan geïnhibeerd worden door farmacologische interventie middels N-acetylcysteine, een antioxidant. Vervolgens blijkt N-acetylcysteine de ontwikkeling van

veneuze IH in een proefdier model tegen te gaan. In **hoofdstuk 5** wordt de celcyclus als het hart van IH belicht. Een aantal celcyclus eiwitten spelen een belangrijke rol in het aansturen van de celdeling. Na kwantificeren van deze celcyclus eiwitten in gezonde venen en arteriën en IH laesies blijkt de expressie hiervan sterk gerelateerd te zijn aan het aantal delende cellen in IH laesies. Dit biedt perspectief voor farmacologische interventie om celcyclus progressie tegen te gaan. Een andere farmacologische interventie mogelijkheid wordt in **hoofdstuk 6** belicht. Hier wordt het experimentele immuno-suppressivum FK778 onderzocht op anti-proliferatieve eigenschappen. Met behulp van celkweek technieken en een proefdiermodel wordt aangetoond dat FK788 leidt tot vermindering van veneuze celdeling en IH.

Concluderend wordt met de resultaten in dit proefschrift de rol van inflammatie in het ontstaan van veneuze IH onderstreept. Tevens worden nieuwe moleculaire mechanismen in het ontstaan van IH belicht en farmacologische interventie mogelijkheden geopperd.